

УДК 634.8

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА МЕЛАФЕН НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ

EFFECTIVENESS OF DRUG MELAFEN AT VARIOUS STAGES OF CLONAL MICROPROPAGATION

Н.П. Дорошенко, В.Г. Пузырнова

Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск, Россия, e-mail: valentina.puzirnova@yandex.ru

N.P. Doroshenko, V.G. Puzirnova

All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking – branch the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agrarian Scientific Center", Novocherkassk, Russia, e-mail: valentina.puzirnova@yandex.ru

Аннотация. На сортах винограда различного происхождения и направления использования исследовано применение препарата Мелафен на этапах ввода, пролиферации, микрочеренкования, адаптации к нестерильным условиям и условиям открытого грунта. Установлено, что на этапе ввода для улучшения приживаемости и регенерации меристем следует вводить в состав питательной среды регулятор роста Мелафен в концентрации 10^{-7} %. Отмечена различная сортовая отзывчивость на применение препарата. Использование Мелафена на этапе ввода меристем в культуру оказывает положительное влияние на прохождение следующего этапа: микроразмножения (пролиферации). Выявлено положительное воздействие препарата Мелафен при микрочеренковании растений винограда сорта Цимладар. Отмечено четкое улучшение всех качественных показателей при концентрациях 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-11} %. Лучшие результаты получены при концентрации 10^{-7} . Прослеживается сортоспецифичность действия препарата по улучшению характеристик растений. Обнаружено «последствие» Мелафена, выражающееся в улучшении состояния растений при повторном субкультивировании без Мелафена. Длина ризогенной зоны увеличилась в 1,4–2,5 раза, высота растений в 1,3 раза, увеличилась скорость роста, то есть имеет место ускорение микроразмножения и, в целом, повышение эффективности клонального микроразмножения. Улучшение качественных характеристик растений способствует процессу адаптации (более высокий выход адаптированных растений) с хорошим состоянием растений.

Summary. Application of the drug Melafen was studied at the stages of introduction, proliferation, micropropagation, adaptation to non-sterile conditions and open ground conditions of grapevine varieties of various origins and directions of use. It was found that at the introduction stage, in order to improve the survival and regeneration of meristems, the growth regulator Melafen in a concentration of 10^{-7} % should be added to the nutrient medium. Different varietal responses to the use of the drug was noted. The use of Melafen at the stage of introducing meristems into culture has a positive effect on the passage of the next stage - micropropagation (proliferation). The positive effect of the drug Melafen was revealed in the microcutting of plants of the Tsimladar grapevine variety. A clear improvement in all qualitative indicators was noted at concentrations of 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-11} %. The best results were obtained at a concentration of 10^{-7} . The variety-specificity of the drug's action to improve the characteristics of plants was noted. The "aftereffect" of Melafen was found, which is expressed in an improvement in the condition of plants during subculture without Melafen. The length of the rhizogenic zone increased by 1.4–2.5 times, the height of plants by 1.3 times, the growth rate increased, and therefore, there is an acceleration of micro-propagation and, in general, an increase in the effectiveness of clonal micropropagation. Improving the qualitative characteristics of plants contributes to the adaptation process (higher yield of adapted plants) with good plant condition.

Ключевые слова: виноград, Мелафен, этап ввода, пролиферация, массовое тиражирование. адаптация, эффективность.

Keywords: grapevine, Melafen, introduction stage, proliferation, propagation, adaptation, efficiency.

DOI: 10.32904/2712-8245-2024-27-9-18

Введение. Клональное микроразнообразие – современное перспективное направление, которое находит широкое применение в сельскохозяйственной биотехнологии: в селекции, питомниководстве, сохранении природных ресурсов. Во всем мире на различных сельскохозяйственных культурах проводятся исследования по совершенствованию клонального размножения для нужд сельского хозяйства. Это относится и к виноградарству.

Основное преимущество клонального микроразмножения – это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала так как вирусные и фитоплазменные заболевания из-за хронического характера наносят виноградарству постоянный экономический ущерб.

В процессе проведения исследований разработаны и усовершенствованы способы получения оздоровленного посадочного материала, которые легли в основу технологии перевода питомниководства на сертифицированную основу [1]. Одним из наиболее важных факторов повышения эффективности клонального микроразмножения является содержание в питательной среде регуляторов роста [2]. Одним из таких регуляторов роста является Мелафен.

Уникальный, не имеющий аналогов в мире, препарат Мелафен создан в институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦРАН. Автором является Фаттахов С.Г. Это синтетический регулятор роста растений нового поколения, представляющий собой меламиновую соль бис (оксиметил) фосфиновой кислоты

Полученные на разнообразных культурах (зерновых, кормовых, овощных) экспериментальные данные позволяют заключить, что Мелафен, как и фитогормоны обладает полифункциональностью действия. Направленность физиолого-биохимических изменений в растениях под влиянием препарата подобна действию цитокинов на энергетический и метаболический обмен растений. Мелафен участвует в регуляции физиологических процессов в течение всего онтогенеза и регуляции обмена веществ закончивших рост органов [3, 4].

Эффективность Мелафена выявлена при его применении в биотехнологии: увеличивалось образование различных вторичных метаболитов (алкалоидов, полифенолов), которые находят широкое применение в качестве биологически активных соединений фармакологического направления [5, 6].

Доказано, что препарат Мелафен можно применять в технологии ускоренного размножения оздоровленного семенного картофеля условиях *in vitro* и в условиях защищенном грунте [7].

Цель настоящей работы – уточнить действие Мелафена на отдельных этапах с тем, чтобы усовершенствовать способ клонального микроразмножения

За основу был взят способ оздоровления растений при помощи культуры апикальных меристем при относительном размере эксплантов 0,1–0,2 мм. Исследования проводят на питательной среде Мурасиге и Скуга, модифицированной для каждого этапа клонального микроразмножения [8]. Для улучшения регенерации меристем, повышения выхода оздоровленных растений в состав питательной среды добавляют препарат Мелафен.

Объекты и методы исследований. Для клонального микроразмножения в качестве исходного материала на этапе ввода в культуру *in vitro* использовали почки побегов виноградных кустов из полевых коллекций. Для ввода их в культуру необходимо осуществить поверхностную стерилизацию, оздоровить от внутренней вирусной и фитоплазменной инфекции с помощью противовирусных препаратов и антибиотиков.

Работу по выделению меристем проводили в ламинарном боксе «Фатран» под бинокулярным микроскопом МБС-9 при 25-кратном увеличении. При помощи пинцета и скальпеля из глазков вычленивают апикальные меристемы. В каждую пробирку высаживают по одной меристеме на твердую питательную среду Мурасиге и Скуга. В состав питательной среды добавляли препарат Мелафен в концентрациях 10^{-5} – 10^{-11} .

Меристемы, увеличившиеся до 3 мм и более, высаживали в конические колбы Эрленмейера с жидкой питательной средой Мурасиге и Скуга (МС) на мостики из фильтровальной бумаги. Толщина слоя питательной среды в колбе 2 мм (что соответствует около 10–12 мл). Учеты и пересадка эксплантов на свежую питательную среду проводят через 14 дней.

На этапе ввода использовали пробирки размером 20×72 мм. На каждый вариант выделяют 14 меристем.

На этапе пролиферации использовали колбы Эрленмейера на 100 мл. Объем жидкой питательной среды в колбе – 12–15 мл, пересадку на свежую питательную среду проводят через две недели.

На этапе микрочеренкования культивирование проводили в пробирках размером 200 × 20 мм. На каждую повторность высаживали 14 микрочеренков, на вариант – 42 микрочеренка.

При проведении учетов и наблюдений учитывали показатели: инфицированность эксплантов, %; размер эксплантов, мм; приживаемость, %; число срезуемых микропобегов, шт.; общую укореняемость, %; количество корней, шт.; длину корней, мм; величину ризогенной зоны, сроки развития корневой системы, высота растения, мм; число листьев коэффициент полярности; продолжительность культивирования, дней.

Жизнеспособность растений регистрировали на протяжении всего периода культивирования от начала пассажа до гибели последнего растения с периодичностью в один месяц. Под жизнеспособностью подразумевается показатель, характеризующий продолжительность жизни анализируемого растения. Этот показатель оценивали в баллах по количеству некрозов тканей листьев и побе-

гов: 0 баллов – визуальная гибель растения, 1 балл – некроз более 50 % тканей растения, 2 балла – некроз менее 50 % тканей, 3 балла – растения без некроза.

Использование препарата Мелафен на этапе ввода в культуру для стимулирования регенерации меристем. Действие препарата Мелафен на приживаемость и развитие меристем исследовано на сортах: Каберне – Совиньон, Денисовский, Памяти Смирнова, Саперави северный, Кармакод, Илья, Ледяной и Золотце.

Исследование Мелафена при вводе в культуру апикальных меристем сортов Денисовский, Памяти Смирнова и Саперави северный показало положительный результат. Как следует из данных, приведенных в таблице 1, препарат в концентрации 10^{-7} % способствовал повышению регенерационной способности меристем у изучаемых сортов.

Таблица 1. Влияние различных концентраций Мелафена на регенерационную способность меристем, 2013–2014 гг.

Вариант	Характеристика состояния меристем, штук						Продолжение ввода, шт.	На пролиферацию, шт.
	гибель	< 1 мм	1–3 мм	> 3мм	слабый линейн. рост	розетка листьев		
Денисовский								
I.Контроль	4	2*	2	2	1	4	5	4
II. МФ 10^{-7}	2	-	3	2	2	5	7	5
III.МФ $10^{-7.5}$	4	3	1	1	1	4	5	5
IV.МФ 10^{-8}	5	2*	2*	1*	1	3	2	2
Памяти Смирнова								
I.Контроль	-	2*	2*	2	4	4	6	4
II.МФ 10^{-7}	1	1	4	-	2	6	7	6
III.МФ $10^{-7.5}$	8	-	-	2*	3	3	4	2
IV.МФ 10^{-8}	6	-	-	2	2	4	6	2
Саперави северный								
Контроль	-	4	7	3	---	--	3	3
Мф 10^{-7}	-	-	5	6	3	-	7	7
Мф 10^{-11}	1	-	7	3	2	1	2	5

При введении Мелафена в состав питательной среды меристемы быстрее увеличивались в размерах, приступали к линейному росту и образованию розетки листьев, ускорялся переход к следующему этапу – собственно микроразмножения. Росторегулирующее действие Мелафена, как отмечают Н.П. Кораблева, Э.П. Ладыженская и др. [9], по-видимому, проявляется через его влияние, как на процессы растяжения клеток, так и на процессы деления клеток в отдельных зонах меристемы.

У изучаемых сортов выявлено улучшение ростовых параметров меристем при концентрации препарата в разведении 10^{-7} и снижение при концентрациях $10^{-7.5}$ и 10^{-8} %. При введении в культуру сорта Саперави северный, Мелафен в

концентрации $10^{-7}\%$ оказал более существенное влияние на прохождение этапа ввода меристем и переход их к этапу пролиферации.



Контроль

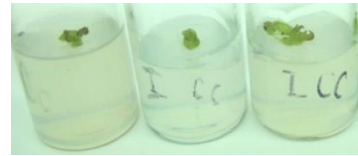
Мелафен 10^{-7}

Рисунок 1. Этап ввода сорта Саперави северный в культуру *in vitro*

Таким образом, при вводе в культуру *in vitro* сортов Денисовский, Памяти Смирнова и Саперави северный позитивное влияние на прохождение этапа оказал регулятор роста Мелафен в концентрации $10^{-7}\%$. Положительные результаты получены у всех трех сортов.

Результаты наблюдений за развитием меристем сортов Кармакод и Илья, выделяемых в период активного роста побегов винограда, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Особенности регенерации меристем различных сортов винограда на этапе ввода, 2014–2016 гг.

Вариант	Состояние меристем, штук						
	гибель	< 1 мм	1–3мм	> 3мм	Слабый линейный рост	Розетка листьев	Всего развившихся
Сорт Ледяной—14дней культивирования							
Контроль	0	4	3	2	2	-	11
Мелафен	0	2	3	2	2	-	10
Сорт Золотце – 14 дней культивирования							
Контроль	0	3	2	2	2	-	10
Мелафен	0	5	3	1	3	-	13
Сорт Илья —55 дней культивирования							
Контроль	-	-	3	1	-	-	4
Мелафен	2	-	4	-	-	1	5
Сорт Кармакод –43 дня культивирования							
Контроль	-	1	-	-	2	2	5
Мелафен	-	2	-	-	2	2	6

Меристемы увеличивались в размерах, происходил их линейный рост и образование листьев. Развитие было замедленным, к этому сроку «проснулись» единичные экземпляры, остальные находились в состоянии «меристема ожидания». Добавленный в питательную среду препарат незначительно стимулировал этот процесс, но положительное влияние Мелафена все же было отмечено.

Меристемы сортов Ледяной и Золотце, выделенные в июне, сразу тронулись в рост, гибели их не наблюдалось. Через 15 дней культивирования большинство из них были мелкого (до 1 мм) и среднего (1–3 мм) размеров, 1/5 часть

меристем была, размером более 3 мм, и у такого же количества меристем наблюдался слабый линейный рост и раскрытие листовых примордиев. Более интенсивное развитие отмечено у меристем сорта Золотце. Через 30 дней культивирования размеры меристем увеличились, наблюдалось образование розетки с листьями и почками. Более интенсивно этот процесс проходил также у сорта Золотце. То есть, отмечена различная сортовая отзывчивость на применение препарата Мелафен.

Дополнительно исследовано действие препарата Мелафен на сорте Каберне – Совиньон. Выявлено влияние места расположения экспланта на приживаемость и развитие меристем. Меристемы, размером менее 1 мм, выделяли из почек, расположенных в нижней, средней и верхней части побегов пробирочных растений и высаживали на питательную среду МС, модифицированную для ввода. Полученные результаты отражены в таблице 3. Из приведенных данных следует, что лучшее развитие меристем (50–60%) происходило из почек, выделенных из нижней и средней части побегов. В течение двух месяцев они оставались живыми и увеличивались в размерах. В этих вариантах отмечена меньшая гибель меристем из-за отсутствия развития. Меристемы, выделенные из верхней части побегов, развивались намного слабее и их гибель из-за отсутствия развития, составила 70,0%.

Таблица 3. Ход ввода в культуру меристем, расположенных в разных частях побега, сорт Каберне-Совиньон, 2018–2019 гг.

Дата учетов	Расположение меристем на побеге					
	нижняя часть		средняя часть		верхняя часть	
	живые меристемы	отсутствие развития	живые меристемы	отсутствие развития	живые меристемы	отсутствие развития
15.04.19	6	4	6	4	6	4
07.05.19	6	-	5	1	5	1
22.05.19	6	-	5	-	3	2
07.06.19	6	-	5	-	3	-
Всего	6	4	5	5	3	7

Таким образом, для улучшения приживаемости и развития меристем на этапе ввода меристемы следует выделять из нижней и средней части пробирочных растений, а в питательную среду вводить Мелафен в концентрации 10^{-7} %

Действие препарата Мелафен на этапе пролиферации. Применение препарата Мелафен на этапе ввода меристем в культуру оказывает положительное влияние на прохождение следующего этапа: микроразмножения (пролиферации), способствует улучшению образования побегов (таблица 4).

Таблица 4. Образование побегов при различных концентрациях Мелафена, Каберне Совиньон, 2018–2019 гг.

Варианты	Образовалось побегов шт. на пассаж				
	1 (август)	2 (сентябрь)	3 (октябрь)	4 (декабрь)	Всего
Контроль	-	1	-	1	2
10^{-5}	5	-	-	5	10
10^{-7}	10	3	-	14	27
10^{-9}	-	11	9	15	35
10^{-11}	-	-	-	-	-

Образование побегов происходило в основном лишь во второй половине этапа пролиферации. Мелафен во всех концентрациях, за исключением $10^{-11}\%$, оказал положительное влияние на образование побегов. В контроле образовались единичные побеги. Отсутствие образования побегов при разведении Мелафена $10^{-11}\%$ можно объяснить гибелью большого числа меристем, высаженных на пролиферацию, из-за отсутствия развития. Лучший результат получен при концентрации $10^{-7}\%$ и, особенно $10^{-9}\%$. Несмотря на то, что при концентрации $10^{-9}\%$ отмечено большое количество неразвившихся меристем, в этом варианте образовалось наибольшее число побегов. Это, можно объяснить высокой побегообразовательной активностью сохранившихся меристем под влиянием оптимального количества Мелафена.

Пролиферация у сорта Денисовский была замедленной. Конгломераты развивались плохо, часто погибали от некроза и инфекции, срезка побегов была минимальной. Всего было срезано 7 побегов в варианте с Мелафеном в концентрации $10^{-7.5}\%$. Пролиферация у сорта Памяти Смирнова проходила более успешно. Наиболее результативной она была при добавлении в питательную среду препарата Мелафен в концентрации $10^{-7}\%$ (рисунок 2).

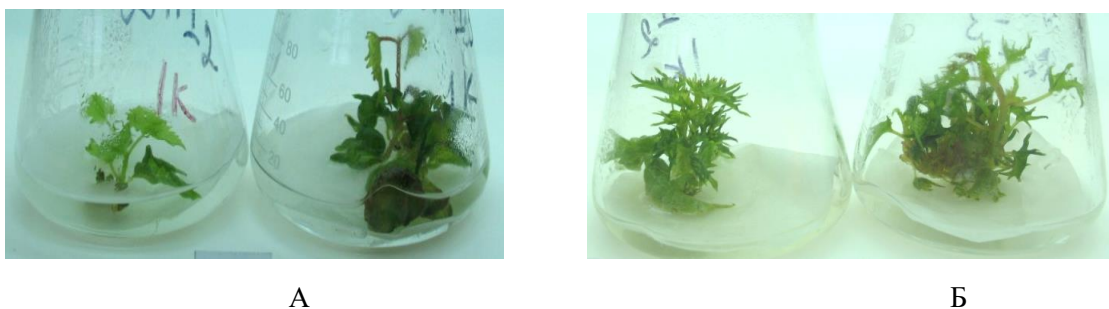


Рисунок 2. Растения сортов Денисовский (А) и Памяти Смирнова (Б) на этапе пролиферации

Мелафен также оказал положительное влияние на пролиферацию сортов: Илья, Золотце, Ледяной, Мускат аксайский, Преображение (таблица 5).

Таблица 5. Срезка адвентивных побегов в ходе пролиферации сортов Ледяной и Золотце Мускат аксайский, 2015–2016 гг.

Препарат	Концентрация	Срезано побегов в пассаже, штук								Коэф. разн.
		1	2	3	4	5	6	7	всего	
Сорт Ледяной										
Контроль	0	1	6	0	1	0	0	1	9	0,6
Мелафен	10 ⁻⁷	3	0	4	0	0	0	2	9	1,5
Сорт Золотце										
Контроль	0	3	0	4	3	6	0	0	16	1,0
Мелафен	10 ⁻⁷	0	0	0	0	6	0	2	8	2,0
Сорт Мускат аксайский										
Контроль	0	1	6	0	1	0	0	1	9	0,6
Мелафен	10 ⁻⁷	3	0	4	0	0	0	2	9	1,5

Приведенные данные указывают на низкий коэффициент размножения (число побегов, образовавшихся на одну выделенную меристему) у всех 3-х сортов. Повышение коэффициента размножения в 2–2,5 раза по сравнению с контролем отмечено при введении в состав питательной среды регулятора роста Мелафен.

Применение Мелафена на этапе микрочеренкования для массового тиражирования мериклонов. Наблюдения за ростом растений проводили при клональном микроразмножении сортов винограда Цимладар, Пухляковский, и Варюшкин с использованием Мелафена в концентрациях 10⁻⁵, 10⁻⁷, 10⁻⁹, 10⁻¹¹%.

Получены достоверные данные о положительном влиянии препарата Мелафен на клональное микроразмножение винограда сорта Цимладар (таблица 6).

Таблица 6. Результаты изучения регулятора роста «Мелафен» при клональном микроразмножении сорта винограда, Цимладар, 2013–2014 г.

Мелафен	Приживаемость, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт.	Скор. см/сут.	Коэф. полярности
		число, шт.	длина, см	ризог. зона, см				
Учет через 23 дня после посадки								
Контроль	96,4	3,0	3,0	9,0	2,7	3,0	0,12	3,3
10 ⁻⁵	78,6	3,3	2,6	8,4	2,9	3,0	0,13	2,9
10 ⁻⁷	100,0	4,6	5,9	27,4	4,4	4,3	0,19	6,1
10 ⁻⁹	100,0	4,3	3,6	15,2	4,3	3,8	0,19	3,5
10 ⁻¹¹	100,0	3,1	3,6	11,1	4,3	3,8	0,19	2,6
Учет через 48 дней после посадки								
Контроль	92,9	4,9	4,2	20,3	8,9	7,2	0,19	2,3
10 ⁻⁵	71,4	4,2	4,7	19,7	9,2	7,8	0,19	2,1
10 ⁻⁷	100,0	5,5	5,8	31,9	10,6	8,9	0,22	3,0
10 ⁻⁹	100,0	4,6	5,5	25,6	10,5	9,0	0,22	2,4
10 ⁻¹¹	100,0	4,4	4,2	18,5	10,0	9,7	0,20	1,8

Отмечено при концентрациях 10^{-7} , 10^{-9} , $10^{-11}\%$ улучшение всех качественных показателей растений уже через 23 дня культивирования. Лучшие результаты получены при концентрации $10^{-7}\%$. Несколько хуже показатели в варианте с концентрацией $10^{-9}\%$. Дальнейшее уменьшение положительного эффекта отмечено при минимальной концентрации препарата.

При дальнейшем культивировании (48 дней) скорость роста замедляется, но превосходит контрольный вариант в 1,2 раза; сохраняются преимущества препарата Мелафен по всем показателям роста при концентрациях 10^{-7} , 10^{-9} , $10^{-11}\%$. При изучении препарата Мелафен на сортах Пухляковский и Варюшкин таких четких данных не получено, но прослеживается тенденция улучшения качественных характеристик оздоровленных растений.

Необходимо отметить, что Мелафен проявил неожиданное действие, выражающееся в улучшении качественных показателей растений при повторном субкультивировании, то есть имеет место «последействие» Мелафена. Оно выражается в том, что растения, выращенные на питательной среде с добавлением препарата Мелафен, которые были вновь расчеренкованы и высажены на питательную среду без Мелафена (осуществлено второе субкультивирование), также проявляют улучшенные качественные показатели. (таблица 7).

Таблица 7. Последействие препарата Мелафен на показатели клонального микроразмножения винограда сорта Пулковской, 2013 г.

Концентрации Мелафена, %	Корни			Высота растений, см	Скорость роста, см/день	Коэффициент полярности
	число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см			
47 дней культивирования						
Контроль	4,6	3,3	15,0	6,0	0,12	2,5
10^{-5}	4,4	3,1	14,0	5,7	0,12	2,4
10^{-7}	5,0	5,3	26,5	7,6	0,16	3,4
10^{-9}	5,4	6,3	34,1	7,6	0,16	4,5

Применение препарата Мелафен, в составе питательной среды, при микроразмножении в концентрациях $10^{-7}\div 10^{-9}\%$, способствует процессу адаптации (более высокий выход адаптированных растений) к нестерильным условиям, улучшению приживаемости растений и их развитию на начальном этапе адаптации (30 дней) к условиям открытого грунта при закладке базисных маточников.

Выводы. Таким образом, разработан способ клонального микроразмножения винограда *in vitro* с использованием нетоксичного, устойчивого во времени, водорастворимого синтетического росторегулирующего препарата Мелафен. Использование предлагаемого способа позволяет увеличить выход растений за счет более эффективной регенерации меристем, приживаемости микрочеренков, регенерации растений и улучшения их качественных показателей. Учитывая низкую себестоимость и высокий оказываемый эффект, применение способа экономически обосновано.

Литература

1. Дорошенко Н.П. Особенности клонального микроразмножения винограда. Монография. Новочеркасск, 2014. 203 с.
2. Дорошенко Н.П. Регуляторы роста и антибиотики при клональном микроразмножении винограда. Монография. Новочеркасск, 2016. 144 с.
3. Влияние Мелафена на рост и энергетические процессы растительной клетки / С.Г. Фаттахов, Н.Л. Лосева, А.И. Коновалов и др. // ДАН. 2004. Т.394. № 1. С. 127–129.
4. Состояние исследований и перспективы применения регулятора роста «Мелафен» в сельском хозяйстве и биотехнологии / В.И. Костин, О.В. Костин, В.А. Исайчев. Казань, 2006. С. 26–34.
5. Козлова Р.Ю., Винтер В.Г. Мелафен как регулятор синтеза фармацевтически ценных алкалоидов при биотехнологических способах их получения // Материалы Всероссийского семинара – совещания «Состояние исследований и перспективы применения регулятора роста нового поколения Мелафен в сельском хозяйстве и биотехнологии». Казань. 2006. С. 102–114.
6. Савина Т.А., Цыбулько Н.С. Применение мелафена для увеличения продуктивности клеточных культур *in vitro* // Материалы Всероссийского семинара – совещания «Состояние исследований и перспективы применения регулятора роста нового поколения Мелафен в сельском хозяйстве и биотехнологии». Казань. 2006. С.138–143.
7. Замалиев Ф.Ф. Влияние мелафена на ускоренное размножение оздоровленного материала в семеноводстве картофеля // Мелафен: механизм действия и области применения Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. «Печать—сервис XX век». Казань, 2014.
8. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда / П.Я. Голодрига, В.А. Зленко, Л.А. Чекмарев [и др.] // Ялта: ВНИИВВиПП «Магарач», 1986. 57 с.
9. Действие мелафена на ростовые процессы в клубнях картофеля / Н.П. Кораблева, Э.П. Ладыженская, Т.А. Платонова, А.С. Евсюнина // Мелафен: механизм действия и области применения//Казань: «Печать—сервис XX век». 2014. 408 с.
10. Патент № 2318376 С1 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00. способ адаптации растений к нестерильным условиям : № 2006113873/12 : заявл. 24.04.2006 : опубл. 10.03.2008 / Н.П. Дорошенко, Л.В. Кравченко, А.Н. Ребров ; заявитель Государственное научное учреждение Всероссийского НИИ виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко (ГНУ ВНИИВВиВ им. Я.И. Потапенко).
11. Ребров, А.Н. Семенова Л.Н. Влияние последствия препарата мелафен, применяемого при культивировании *in vitro*, на адаптацию к нестерильным условиям // Русский виноград. Т6. С. 85-89.
12. Патент № 2538859 С1 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00, А01Н 25/00. Способ клонального микроразмножения винограда *in vitro* : № 2013151082/10 : заявл. 15.11.2013 : опубл. 10.01.2015 / Н.П. Дорошенко, С.Г. Фаттахов, Т.В. Жукова [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук, Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко Российской академии сельскохозяйственных наук.